Product sheet

Buňky MDS-L | 305826

Obecné informace

Description	MDS-L je buněčná linie odvozená od myelodysplastického syndromu (MDS) u lidí, původně vytvořená z buněčné linie MDS92, která sama byla odvozena z kostní dřeně pacienta s MDS vykazujícím chromozomální abnormalitu del(5q). Zatímco MDS92 obsahovala heterogenní směs myeloidních buněk v různých stadiích diferenciace, MDS-L představuje blastickou sublinii s jednotnějšími rysy charakteristickými pro nezralé myeloidní progenitorové buňky. MDS-L si zachovává závislost na interleukinu-3 (IL-3) pro proliferaci in vitro, což odráží citlivost na cytokiny pozorovanou u primárních progenitorových buněk MDS. Linka obsahuje více genetických alterací, včetně homozygotních mutací TP53 a dalších získaných mutací v NRAS a CEBPA. Tyto alterace společně odrážejí klonální evoluci a potenciál leukemické transformace typický pro vysoce rizikový MDS. MDS-L se široce používá jako model pro zkoumání molekulárních mechanismů, které jsou základem patogeneze MDS, blokování diferenciace a terapeutické rezistence. Jedním z významných zjištění při použití MDS-L bylo prokázání, že nucená exprese receptoru granulocytového koloniestimulujícího faktoru (G-CSFR) prostřednictvím retrovirové transdukce umožnila granulocytovou diferenciaci po stimulaci G-CSF. To bylo prokázáno morfologickými změnami, zvýšenou expresí CD11b a zvýšenou redukční aktivitou nitroblue tetrazolia (NBT), což je známkou terminálního zrání granulocytů. Tyto výsledky odhalily vnitřní schopnost MDS-L diferencovat se, pokud jsou obnoveny příslušné signální komponenty, a poskytly tak poznatky o potenciálních přístupech genové terapie zaměřených na defekty diferenciace u MDS. Kromě genetických a funkčních studií byl MDS-L nápomocný při charakterizaci role modifikací histonů v progresi onemocnění. Zejména mutace histonu H3-K27M, která je běžně spojována s dětskými gliomy, ale vzácně se vyskytuje u hematologických malignit, byla identifikována v MDS-L a bylo zjištěno, že inhibuje metylaci histonů zprostředkovanou EZH2. Tato epigenetická změna vedla k rozsáhlému snížení metylace H3-K27 a byla spojena se změnou exprese tumor supresorových genů, jako je p16. Podlinie MDS-L s touto mutací nebo bez ní – získané prostřednictvím diferencovaných kultivačních podmínek IL-3 – umožnily další zkoumání epigenetické heterogenity v rámci MDS a jejích implikací pro růst závislý na IL-3 a terapeutickou odpověď. Tyto jedinečné vlastnosti činí z MDS-L výkonný in vitro a in vivo model pro studium molekulární evoluce a terapeutického zacílení MDS a jeho transformace na akutní myeloidní leukémii.
Organism	Člověk
Tissue	Kostní dřeň
Disease	Myelodysplastický syndrom
Synonyms	MDSL

Charakteristika

Age	52 let
Gender	Muži
Ethnicity	Japonský

Buňky MDS-L | 305826

Growth properties	Zavěšení

Regulační údaje

Citation	MDS-L (katalogové číslo Cytion 305826)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A8QV

Biomolekulární data

Mutational profile	Mutace: CEBPA, jednoduchá, p.Gln311Ter (c.931C>T), heterozygotní, H3C3, jednoduchá, p.Lys28Met (c.83A>T), heterozygotní, NRAS, jednoduchá, p.Gly12Ala (c.35G>C), heterozygotní, TP53, jednoduchá, c.672+1G>A, homozygotní, poznámka = mutace donorového splice

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium 10 % FBS a 20 ng/ml lidského rekombinantního IL-3.
Dissociation Reagent	Žádný
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky MDS-L | 305826

Thawing and Culturing Cells	1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty. 2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace. 3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec. 4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem. 5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte. 6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte. 7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk. 8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Buňky MDS-L | 305826

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.